

Hm



PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE  
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets <sup>5</sup> : <b>A61K 9/16</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 91/19484</b> (43) Date de publication internationale: 26 décembre 1991 (26.12.91)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/EP91/01096 (22) Date de dépôt international: 12 juin 1991 (12.06.91) (30) Données relatives à la priorité: 90/07416 14 juin 1990 (14.06.90) FR (71) Déposants: APLICACIONES FARMACEUTICAS, S.A. DE C.V. [MX/MX]; Heriberto Frias, 1035, Colonia del Valle-Delegación Benito Juárez, 03100 Mexico (MX). TRIPET, Marc [FR/CH]; 51, avenue de Champel, CH-1206 Genève (CH). (72) Inventeurs: JOSUE, Garza, Flores ; Tulipanes, 33, Las Margaritas, 54050 Mexico (MX). LAISECA SOTO, Laura, P. ; 30 Manzana, 13, Lote 13, Rodeo, 08110 Mexico (MX). GUILLEN PICHARDO, Jose ; Guerrero, 340-1214, Guerrero, 06000 Mexico (MX). ANGELES URIBE, Juan ; Curenno, 181, Valle de Aragon, 57100 Mexico (MX).</p>	<p>(74) Mandataire: MEYLAN, Robert; Bugnion S.A., 10, route de Florissant, Case postale 375, CH-1211 Genève 12 (CH). (81) Etats désignés: AT, AT (brevet européen), AU, BB, BE (brevet européen), BF (brevet OAPI), BG, BJ (brevet OAPI), BR, CA, CF (brevet OAPI), CG (brevet OAPI), CH, CH (brevet européen), CI (brevet OAPI), CM (brevet OAPI), DE, DE (brevet européen), DK, DK (brevet européen), ES, ES (brevet européen), FI, FR (brevet européen), GA (brevet OAPI), GB, GB (brevet européen), GN (brevet OAPI), GR (brevet européen), HU, IT (brevet européen), JP, KP, KR, LK, LU, LU (brevet européen), MC, MG, ML (brevet OAPI), MR (brevet OAPI), MW, NL, NL (brevet européen), NO, PL, RO, SD, SE, SE (brevet européen), SN (brevet OAPI), SU, TD (brevet OAPI), TG (brevet OAPI).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i></p>	
<p>(54) Title: INJECTABLE PHARMACEUTICAL COMPOSITION (54) Titre: COMPOSITION PHARMACEUTIQUE INJECTABLE (57) Abstract Programmed-release drug compositions designed to be administered by parenteral injection include solid sized microspheres (1-300 microns) of active substances. When in this form, steroids (e.g. progesterone and 17-β-estradiol) can form injectable contraceptives, and the activity of drugs lasting around 24 hours can be controlled and extended. (57) Abrégé Formulations de médicaments à libération programmée destinées à l'administration parentérales par injection, comprenant des microsphères calibrées solides (1 à 300 microns) de substances actives. Présentées sous cette forme, des stéroïdes (par ex. progesterone et 17-β-estradiol) peuvent constituer des anticonceptifs injectables, et l'action de médicaments à durée de l'ordre de 24 heures peut être régulée et prolongée.</p>		

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	ES	Espagne	MG	Madagascar
AU	Australie	FI	Finlande	ML	Mali
BB	Barbade	FR	France	MN	Mongolie
BE	Belgique	GA	Gabon	MR	Mauritanie
BF	Burkina Faso	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
BG	Bulgarie	GN	Guinée	NL	Pays-Bas
BJ	Béniin	GR	Grèce	NO	Norvège
BR	Brésil	HU	Hongrie	PL	Pologne
CA	Canada	IT	Italie	RO	Roumanie
CF	République Centrafricaine	JP	Japon	SD	Soudan
CG	Congo	KP	République populaire démocratique de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KR	République de Corée	SN	Sénégal
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SU	Union soviétique
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	US	Etats-Unis d'Amérique
DK	Danemark				

- 1 -

Composition pharmaceutique injectable.

La présente invention concerne un procédé pour améliorer le contrôle des propriétés pharmacocinétiques et pharmacologiques de substances pharmaceutiquement actives. Elle concerne également des particules de substances actives, et leur utilisation dans des formulations injectables à libération retardée.

Art antérieur

Des substances biologiquement actives, faiblement solubles en milieu physiologique, ont déjà été utilisées sous forme de suspension de particules et administrées par injection intramusculaire pour obtenir une dissolution lente, donc un effet prolongé dans l'organisme humain ou animal. Par exemple, des mélanges de norethistérone et de mestranol, sous forme de poudre cristalline en suspension aqueuse, ont été essayés pour la fabrication d'un anticonceptif injectable intramusculaire (J. Garza Flores et al, Contraception, mai 1988, Vol. 35, N° 5, 471 - 481).

Probablement à cause des variations de granulométrie et des irrégularités de forme des particules, ces compositions de l'art antérieur présentent en général plusieurs défauts :

- Courbe de libération des substances actives présentant un fort pic juste après l'injection, puis une pente descendante, ce qui augmente la dose totale nécessaire pour obtenir un effet durable suffisant.
- Formation occasionnelle de grumeaux ou croûtes dans la suspension.

- 2 -

- Nécessité d'utiliser des aiguilles hypodermiques de grand diamètre pour éviter le risque d'un blocage en sortie de seringue.

Le brevet FR 2 070 153 (DUPONT DE NEMOURS) décrit des suspensions de particules de principes actifs enrobées de matrices de polymères polylactides. Cette technique diminue l'effet de choc médicamenteux initial et ralentit la libération de la substance active. Cependant, les irrégularités de forme créent, là aussi, un risque d'incident opératoire au moment de l'injection, et les variations de forme, de taille et de composition interne de ces particules entraînent une variabilité non souhaitable des vitesses de dissolution dans l'organisme receveur, c'est-à-dire une dispersion des résultats ne permettant pas une prédiction pharmacocinétique précise.

Le brevet EP N° 257 368 (AMERICAN CYANAMID CO) décrit une composition à usage parentéral constituée de microsphères de graisses et/ou de cires, d'origines naturelle ou synthétique, à bas point de fusion (40-60°), chargées de particules d'un polypeptide, par exemple une hormone de croissance. Lorsque ces compositions sont injectées à des bovins, l'hormone de croissance voit sa dissolution retardée par l'enrobage de cire ou de graisse, ce qui entraîne une prolongation de sa présence dans l'organisme animal, entraînant une augmentation de la croissance ou de la lactation. Ces microsphères ont tendance à se déformer, s'agglutiner ou à coalescer lorsque la température ambiante est élevée, notamment dans les pays tropicaux (40-60° C), ce qui peut entraîner des problèmes de manutention ou de stockage. Comme la proportion de polypeptide actif,

- 3 -

dans la particule, est limitée en pratique à 30 - 40 %, l'injection de ces particules présente également l'inconvénient d'introduire dans l'organisme une quantité de substance-porteur étrangère et inutile à cet organisme, au moins de l'ordre de 1,5 - 3 fois celle de la substance active.

D'autres techniques d'enrobage ou de micro-encapsulation ont été utilisées dans l'art antérieur dont une partie est décrite, par exemple dans "Encyclopédia of Chemical Technology, 3e édition, volume 15, pages 470 à 493 (1981), JOHN WILEY AND SONS. Les micro-capsules ainsi formées contiennent souvent des particules "centrales" de taille très différente, voire pas de particule centrale du tout. Les micro-sphères ou micro-capsules de l'art antérieur permettent une dissolution ralentie, donc une libération globalement retardée des principes actifs. Cependant, compte tenu des hétérogénéités de forme et de masse des particules centrales ou des particules ultra fines dispersées pouvant se trouver enrobées dans des capsules de dimension extérieure semblable, la vitesse de libération du principe actif n'est pas homogène et un contrôle fin de la libération, voire une libération finement programmée en fonction du temps n'est pas possible.

D'autre part, sur le plan pharmacologique, la reproductibilité et la fiabilité des résultats obtenus avec ces préparations de l'art antérieur n'est pas suffisante, pour certaines applications comme par exemple la contraception, ce qui constitue un obstacle à leur emploi, en pratique, sur une grande échelle.

- 4 -

Une telle libération programmée est cependant souhaitable, en particulier lorsque l'action de la substance biologiquement active doit coïncider avec un cycle biologique naturel de l'organisme humain ou animal (par exemple menstruel) ou lorsqu'il est important (par exemple dans le cas d'un analgésique, d'un alcaloïde, d'un tonicardiaque, etc.) que les taux de libération soient bien contrôlés, pour éviter toute période de surdose ou au contraire de sous-dosage au moment d'une injection suivant une injection antérieure.

#### Sommaire de l'invention

Le but de la présente invention est de fournir des formulations à libération retardée pour l'administration par injection parentérale, destinées par exemple aux applications citées dans le paragraphe précédent, qui permettent un contrôle fin de cette libération sans présenter les inconvénients des suspensions de particules ou des microcapsules de l'art antérieur.

Ce but est atteint grâce à l'emploi de microsphères solides, non poreuses et calibrées, constituées substantiellement de substances pharmaceutiquement actives.

La vitesse de dissolution d'une microsphère dans un milieu-solvant donné (milieu visé de préférence : le milieu physiologique intérieur) est essentiellement fonction du rayon de la sphère, compte tenu des relations liant volume, surface et rayon d'une sphère.

Selon un aspect de la présente invention, le fait d'utiliser des sphères solides, non poreuses permet d'avoir une connaissance précise de la relation masse-surface des particules et donc, grâce à une sélection

- 5 -

du calibre des sphères, c'est-à-dire du rayon ou d'une répartition de rayons, d'avoir un contrôle précis du taux de libération du ou des principes actifs administrés. Cette même précision de contrôle, en évitant les surdosifications ou le besoin de compenser des sous-dosifications, permet de réduire l'administration totale de la ou des substances biologiquement actives à la quantité minimum requise pour obtenir l'effet thérapeutique désiré et de diminuer ainsi le risque de produire chez le malade des effets secondaires indésirables.

Utilisées sous forme de principes actifs purs, les microsphères selon la présente invention présentent l'avantage par rapport aux particules enrobées ou micro-encapsulées de l'art antérieur de diminuer le volume de matière solide devant être injectée à un organisme vivant. Elles présentent également l'avantage de ne pas introduire d'excipient solide inutile plus ou moins dégradable dans l'organisme.

Elles présentent également l'avantage de ne pas utiliser d'excipient à bas point de fusion (< à 60°C) susceptible de faire s'agglutiner les sphères entre elles et de provoquer des incidents au moment de l'injection.

Certaines substances peuvent être associées à des adjuvants non directement actifs sur l'organisme receveur : l'association peut comprendre divers moyens additifs pharmaceutiquement acceptables pour améliorer la stabilité ou l'intégrité chimique des substances biologiquement actives, étant entendu qu'il ne s'agit pas d'excipients de type vecteur. En particulier, il peut s'avérer utile d'abaisser le point de fusion ou d'inhiber une réaction de décomposition durant le procédé de fabrication (par exemple le procédé par fusion-congélation) des microsphères.

- 6 -

Par rapport aux suspensions de principes actifs purs sous forme de particules de formes irrégulières connues dans l'art antérieur, les microsphères selon la présente invention ont l'avantage d'avoir moins tendance à s'agglutiner et de passer de manière plus fluide par une aiguille hypodermique. D'autre part, des microsphères peuvent être triées et séparées de manière plus fine et plus fiable en fonction de leur taille, que des particules de formes irrégulières.

La formulation selon la présente invention peut se présenter sous forme de poudre de microsphères en flacons-ampoules, prête à être mise en suspension, ou sous forme de suspension déjà préparée en ampoules injectables prêtes à être administrées en médecine humaine ou vétérinaire. Le milieu de suspension peut être de l'eau, une solution saline, une huile, contenant les tampons, surfactants, conservants, habituellement utilisés dans les suspensions injectables par les pharmaco-techniciens, ou tout autre substance ou combinaison qui ne menace pas l'intégrité physique et chimique des substances en suspension et qui convienne pour l'organisme qui la recevra. Si l'on souhaite éviter une élévation initiale brusque du taux de principe actif dans le milieu intérieur de l'organisme receveur, on préférera, dans le cas des suspensions prêtes à l'emploi, l'utilisation de vecteurs liquides dans lequel lesdits principes actifs sont pratiquement insolubles. Dans le cas de substances actives partiellement solubles dans le vecteur liquide tiède, mais insolubles à froid, on préférera, sur le plan pharmacologique, éviter la formation de précipités (dit effet de "caking") en réalisant des formulations présentant séparément les microsphères en poudre et le vecteur liquide qui ne seront mélangés qu'au moment de l'injection.



Dans les applications vétérinaires, où la durée d'effet désirée peut être très longue (par exemple période de lactation de la femelle adulte), on peut utiliser des diamètres de quelques centaines de microns. Si on souhaite limiter le diamètre des aiguilles de seringues d'injection pour le confort du patient, il est bon de limiter le diamètre des microsphères à 300 microns et plus préférentiellement à 100 microns. Par contre, pour des durées d'effet désiré très courtes (par exemple circadiennes), le diamètre de la microsphère peut s'abaisser à 1 micron.

Pour la plupart des applications en médecine humaine (durée d'action du principe actif comprise entre un cycle circadien et un cycle mensuel), il est préférable d'utiliser des microsphères dont le diamètre soit compris entre 5 et 100 microns, selon les substances actives.

Une condition essentielle pour réaliser la forme galénique selon la présente invention est de disposer de lots de microsphères calibrées, c'est-à-dire homogènes en diamètre. Si nécessaire, un tri des microsphères selon leur diamètre peut être réalisé lors de la fabrication à l'aide de procédés connus : par exemple par séparateurs cycloniques, par tamisage avec succion d'air ou encore par tamisage en milieu liquide. En pratique, il suffit que plus de 70 % des microsphères aient des diamètres compris entre 70 % et 130 % d'un diamètre spécifié. Si besoin, la courbe de dissolution idéale, déterminée par l'application envisagée, peut être approchée en effectuant un mélange de lots ayant des diamètres différents appropriés.

- 8 -

Des procédés pour mettre un produit solide sous forme de microsphères, par abrasion mécanique, sont connus dans l'état de la technique. D'autres procédés utilisent, par exemple, la mise en suspension du produit à l'état fondu sous forme de microgouttes, sous agitation, dans un vecteur liquide avec lequel ledit produit est non miscible, suivi de la solidification dudit produit. Le brevet WO 90/13285 décrit un procédé de fabrication de microsphères poreuses obtenues par pulvérisation, congélation et lyophilisation dans un gaz froid, de substances préalablement dissoutes dans un solvant adéquat. Pour réaliser les microsphères solides et non poreuses selon la présente invention, on a préféré développer, pour les substances qui peuvent être maintenues à l'état chimiquement stable au-dessus du point de fusion, un procédé qui consiste à pulvériser sous pression et/ou à l'aide de gaz chaud la substance (éventuellement avec des additifs) à l'état fondu, puis à congeler rapidement le brouillard ainsi formé dans un gaz froid.

De plus, les particules non conformes aux spécifications peuvent être recyclées.

Compte tenu des conditions d'utilisation, sur le plan pharmacologique, les formulations selon la présente invention sont particulièrement adaptées à des substances dont la température de fusion est supérieure à 60° et qui sont thermostables au-dessus de leur point de fusion (ou qui peuvent être rendus thermostables à l'aide d'additifs) pour pouvoir subir le procédé de fabrication. Un additif peut également être utilisé pour supprimer une transition de phase, d'une phase solide à une autre phase solide, susceptible de fragiliser la structure de la sphère. Le procédé est également adapté à des mélanges de substances actives en solution solide l'une dans l'autre.

La présente invention sera mieux comprise à l'aide des figures et des exemples ci-dessous. Elle n'est cependant pas limitée à ces formes d'exécution, mais seulement par la teneur des revendications.

#### Brève description des figures

La figure 1 montre le schéma de fabrication des microsphères selon la présente invention.

La figure 2 montre des microsphères de progestérone ( $\Phi$  moyen = 50  $\mu\text{m}$  - 100  $\mu\text{m}$ ).

La figure 3 montre des microsphères de 17- $\beta$ -estradiol ( $\Phi$  moyen = 100  $\mu\text{m}$ ).

La figure 4 montre la répartition granulométrique d'une fraction ( $\Phi$  moyen = 25  $\mu\text{m}$ ) de sphères de cholestérol.

La figure 5 représente un montage expérimental pour déterminer la vitesse de dissolution de microsphères.

La figure 6 montre les profils de dissolution comparés de microsphères et de cristaux de progestérone (50-125  $\mu\text{m}$ ).

La figure 7 montre les vitesses de dissolution comparées de microsphères et de cristaux de progestérone sous forme de dérivés de l'absorbance optique en fonction du temps.

Les figures 8 et 9 montrent les profils de dissolution comparés de microsphères et de cristaux de 17- $\beta$ -estradiol (50 à 100  $\mu\text{m}$ ).

- 10 -

Les figures 10 et 11 montrent les profils de dissolution comparés de microsphères et de cristaux de progestérone (50 à 100  $\mu\text{m}$ ).

Les figures 12 et 13 montrent les profils de dissolution comparés de microsphères et de cristaux de naproxène.

Les figures 14, 15, 16 montrent les niveaux plasmatiques obtenus (chez le lapin) avec de la progestérone par injection, respectivement d'une solution huileuse, de cristaux de taille moyenne 44  $\mu\text{m}$ , et de microsphères de taille moyenne 44  $\mu\text{m}$ .

Les figures 17, 18, 19 montrent les niveaux plasmatiques obtenus (chez le lapin) avec du 17- $\beta$ -estradiol par injection, respectivement d'une solution huileuse, de cristaux et de microsphères.

La figure 20 montre les niveaux plasmatiques obtenus (chez le lapin) avec du naproxène, respectivement d'une solution (courbe 0), de cristaux (courbe 1) et de microsphères (courbe 2).

Les figures 21 et 22 montrent les profils de dissolution comparés de microsphères et de cristaux d'indométhacine (50 à 100  $\mu\text{m}$ ).

Dans les figures de 6 à 13 et 20 à 22 les abcisses sont indiquées en heures, dans les figures 14 à 19 les abcisses sont indiquées en jours, après l'injection.

- 11 -

Exemple 1 : fabrication de microsphères de progestérone.

Nous nous référons à la figure 1. De l'azote préchauffé sous pression est envoyé par le tube d'entrée  $A_1$  dans le dispositif pulvérisateur et traverse une zone de chauffage B thermo-régulée où il est porté à une température comprise entre 125 et 130°C, avant d'être admis dans le pulvérisateur D. Le pulvérisateur D est relié par une tubulure à une enceinte C chauffée dans laquelle la progestérone est maintenue à l'état fondu ( $T = 130^\circ\text{C}$ ) et sous pression d'azote (entrée  $A_2$ ). Elle est entraînée par le courant d'azote et mélangée à celui-ci, pour être pulvérisée en brouillard par la buse de sortie du pulvérisateur D et pénétrer dans la chambre de pulvérisation-congélation F. Un réservoir E contient de l'azote liquide qui s'évapore et pénètre par plusieurs canalisations sous forme de gaz ultra froid, à grande vitesse, dans la chambre de pulvérisation-congélation F, où il rencontre le brouillard de progestérone. Les gouttelettes, sitôt après leur formation par le pulvérisateur sont entourées d'un courant de gaz glacial qui les cristallise en microsphères et les empêche de toucher les parois avant leur solidification totale. La température à la sortie de la chambre de pulvérisation-congélation est comprise entre  $-15^\circ$  et  $-50^\circ\text{C}$ . La totalité des microsphères produite à l'aide de cette chambre F ont une forme sphérique parfaite. A la sortie de la chambre F se trouvent deux séparateurs cycloniques,  $G_1$ ,  $G_2$ , (de construction connue par ailleurs) montés en série. Pour un fractionnement plus fin, le nombre de cyclones peut être augmenté. Les microsphères sont récupérées dans des récipients collecteurs  $H_1$  et  $H_2$ ; les gaz, à la sortie des cyclones, traversent un filtre décontaminant I, dans lequel une légère dépression par rapport à la pression régnant dans le pre-

- 12 -

mier cyclone est maintenue à l'aide d'une pompe. La figure 2 montre une microphotographie d'une fraction ( $\phi = 50 \mu\text{m}$  à  $100 \mu\text{m}$ ) de microsphères de progestérone récupérées (au microscope électronique).

Exemple 2 :

les mêmes conditions opératoires (sauf TF =  $185^\circ\text{C}$ ) sont appliquées à la fabrication de microsphères de  $17\text{-}\beta\text{-}$ estradiol avec les mêmes résultats.

La figure 3 montre une microphotographie d'une fraction de ces microsphères, de diamètre moyen  $100 \mu\text{m}$ .

Exemple 3 : Répartition granulométrique.

Des microsphères de cholestérol sont fabriquées par le même procédé opératoire que dans l'exemple 1. Après séparation, la fraction de diamètre moyen  $25 \mu\text{m}$  présente la distribution granulométrique montrée dans la figure 4.

Exemple 4 : Fabrication de microsphères de naproxène.

On utilise le procédé de l'exemple 1. Conditions opératoires :

Fusion :  $160^\circ\text{C}$  en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 2,0 psi ( $140\text{g}/\text{cm}^2$ )

Congélation : par air à  $- 20^\circ\text{C}$ , sous pression de  $4 \text{ kg}/\text{cm}^2$

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la granulométrie.

- 13 -

Exemple 5 : microsphères de progestérone

On utilise le procédé de l'exemple 1. Conditions opératoires :

Fusion : 130°C en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 0.5 psi (70g/m<sup>2</sup>)

Congélation : par air à - 20°C, sous pression de 4 kg/cm<sup>2</sup>

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la granulométrie.

Exemple 6 : 17-β-estradiol

On utilise le procédé de l'exemple 1. Conditions opératoires :

Fusion : 185°C en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 2,0 psi (140g/cm<sup>2</sup>)

Congélation : par air à - 10°C, sous pression de 3 kg/cm<sup>2</sup>

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la granulométrie.

- 14 -

Exemple 7 : microsphères d'indométhacine

On utilise le procédé de l'exemple 1. Conditions opératoires :

Fusion : 165°C en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 1,5 psi (110g/cm<sup>2</sup>)

Congélation : par air à - 20°C, sous pression de 4 kg/cm<sup>2</sup>

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la granulométrie.

Analyses comparatives spectrophotométrique UV et IR avant et après formation de microsphères.

Il est nécessaire de vérifier qu'aucune dégradation chimique des substances n'intervient au cours du processus de fusion-congélation, qui puisse modifier leur action thérapeutique. La comparaison se fait entre la matière première (cristaux) et les microsphères obtenues par fusion-congélation, par analyse spectrophotométrique en UV et en IR. Les graphiques "avant et après" doivent toujours être superposables en UV et généralement IR. Lorsqu'il apparaît des différences dans les courbes d'infrarouge, il convient de vérifier si elles n'ont pas été causées par un phénomène de polymorphisme, en ayant recours à la chromatographie liquide de haute résolution avec arrangement de diodes. Il convient également de recourir à la thermographie, non seulement pour bien cerner les points de fusion, mais aussi pour déterminer s'il y apparaissent des endothermies ou exothermies qui peuvent aussi bien exprimer des modifications structurelles ou un polymorphisme, susceptibles d'avoir un effet sur le processus de formation des microsphères, que les dégradations chimiques produites par le chauffage.



- 15 -

Appareil utilisé en spectrographie en ultraviolet : Hewlett Packard modèle 8452A avec arrangement de photodiodes, avec cellule de quartz ayant un faisceau de 0,1 cm.

Solvants : ethanol pour le 17- $\beta$ -estradiol, la progestérone et le cholestérol; HCl à 0,1 N pour le naproxene, NaOH à 0,1 pour l'indométhacine.

Les résultats ne montrent pas de trace d'alération.

Appareil utilisé en spectrophotométrie en infrarouge : Beckmann Acculab 10. Milieu de dispersion : bromure de potasse

Chromatographe : liquide de haute résolution avec détection par arrangement de photodiodes : Waters 990 et N.E.C. Powermate 2 workstation.

Les résultats ne montrent aucune altération après la mise en microsphères pour l'indométhacine, la progestérone, le 17- $\beta$ -estradiol et le naproxene.

Thermographe : SHIMADZU DSC-50 Calormeter et CR4A workstation.

Les points de fusion relevés sur les thermogrammes différentiels, montrent qu'il n'y a pas eu d'altération chimique des substances (exemple : TF cristaux : 130°C, TF microsphères : 129°C pour la progestérone). Les thermogrammes de la progestérone et du 17- $\beta$ -estradiol montrent seulement une modification morphologique des phases cristallines solides.

- 16 -

Exemple 8 : Courbes de dissolution de microsphères de progestérone.

Les essais peuvent menés soit dans l'eau pure, soit dans un milieu eau/polypropylène-glycol 1:1 pour accélérer la dissolution. Le montage expérimental est montré par la figure 5. Une cellule à perfusion 1, contenant l'échantillon, est alimentée par un réservoir (agité) de milieu de dissolution 2; les deux sont contenus dans un bain-marie 3. La densité optique du milieu, à 240 nm, est enregistrée par un spectrophotomètre 4 et le milieu est ramené dans le réservoir. Un piège à bulle 5 et une pompe péristaltique 6 complètent le circuit.

La figure 6 montre les profils de dissolution comparés de microsphères (courbe 2) et de cristaux (courbe 1) de granulométries comprises entre 50 et 125  $\mu\text{m}$ , mesurés par la variation d'absorbance optique en fonction du temps. L'essai est effectué dans un milieu eau/PPG 50:50. On constate que la dissolution est retardée par la mise en forme de microsphères.

La figure 7 montre les vitesses de dissolution (dérivées des variations de D.O. en fonction du temps) de cristaux (1) et de microsphères (2) de même granulométrie moyenne (environ 150  $\mu\text{m}$ ). La distribution granulométrique des cristaux est plus hétérogène et leur courbe de dissolution plus irrégulière que celle des microsphères.

- 17 -

Les exemples suivants montrent la reproductibilité comparée des parties initiales des courbes de dissolution de cristaux et de microsphères de granulométrie comparable, d'un même produit. L'appareil utilisé est celui de la figure 5. Plusieurs (de 3 - 6) circuits de mesure (cellules de dissolution et tubulures) contenant des échantillons identiques, sont mis en oeuvre en parallèles par la même pompe péristaltique et mesurés simultanément.

Exemple 10 : Dissolution de cristaux de progestérone (fig. 11) / microsphères de progestérone (fig. 10).

Milieu de dissolution utilisé : H<sub>2</sub>O qualité HPLC avec 0,01 % de Tween 80

Echantillon : 50 mg.

granulométrie : 50 à 100 microns

Intervalles d'échantillonnage : 0, 2, 4, 8, 14, 20 heures

Longueur d'ondes de spectrophotométrie : 240 nm

Exemple 11. Dissolution de microsphères de naproxene (fig. 12) / cristaux de naproxene (fig. 13). L'appareil utilisé est celui de la figure N° 5.

Milieu de dissolution utilisé : H<sub>2</sub>O qualité HPLC avec 0,01 % de Tween 80

Echantillon : 50 mg.

granulométrie : 50 à 100 microns

Intervalles d'échantillonnage : 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24 heures

Longueur d'ondes de spectrophotométrie : 232 nm

- 18 -

Exemple 12 : Dissolution de microsphères de 17- $\beta$ -estradiol : (Fig. 9) / cristaux de 17- $\beta$ -estradiol (fig. 8). L'appareil utilisé est celui de la figure N° 5.

Milieu de dissolution utilisé : H<sub>2</sub>O qualité HPLC avec 0,01 % de Tween 80

Echantillon : 50 mg.

granulométrie : 50 à 100 microns

Intervalles d'échantillonnage : 0, 2, 4, 18 heures

Longueur d'ondes de spectrophotométrie : 282 nm

L'ensemble des courbes montre que la reproductibilité des résultats et la régularité des profils de dissolution est meilleure pour des lots de microsphères que pour des lots de cristaux, dans la phase initiale de dissolution (qui est la période la plus critique).

Exemple 14 : Formulations injectables

Formule N° 1

Microsphères de progestérone	75	mg
Polyéthylène Glycol 800	20	mg
Carboxyméthylcellulose sodique	1.66	mg
Polysorbate 80	2.0	mg
Propylparabène	0.14	mg
NaCl	1.2	mg
H <sub>2</sub> O cbp	1	ml

- 19 -

Formule N° 2

Microsphères de 17- $\beta$ -estradiol	2.5	mg
Polyéthylène Glycol 800 20	20	mg
Carboxyméthylcellulose sodique	1.66	mg
Polysorbate 80	2.0	mg
Propylparabène	0.14	mg
NaCl	1.2	mg
H <sub>2</sub> O cbp	1	ml

Formule N° 3.

Microsphères de Naproxene	100	mg
Carboxyméthylcellulose sodique	5.0	mg
Polysorbate 80	4.0	mg
NaCl	9.0	mg
Alcool de benzyl	9.0	mg
H <sub>2</sub> O cbp	1	ml

Exemple 15 : Etude des niveaux plasmatiques de progestérone chez le lapin (fig. 14, 15, 16).

L'étude comprend l'évaluation comparée de l'effet sur les niveaux plasmatiques chez le lapin, produit par l'administration parentérale de progestérone sous forme d'une solution huileuse (0), d'une suspension aqueuse de cristaux (1) et d'une suspension aqueuse de microsphères (2) (formule N° 1, granulométrie moyenne : 44  $\mu$ m)

A 10 lapins mâles de race Nouvelle Zélande d'un poids moyen de 3,5 Kg on administre une dose unique intramusculaire de 150 mg de progestérone (2 ml).

- 20 -

L'intervalle d'échantillonnage est de 1, 2, 4 et 24 heures durant 20 jours, puis à chaque trois jours jusqu'à atteindre 30 jours.

Les prises sont de 2ml par venoponction, sont centrifugées, puis gardées à -20°C jusqu'à l'analyse par radioimmunoanalyse.

Exemple 16 : Etude des niveaux plasmatiques d'estradiol chez le lapin.

L'étude comprend l'évaluation comparée de l'effet sur les niveaux plasmatiques chez le lapin, produit par l'administration parentérale d'estradiol en forme d'une solution huileuse (0), d'une suspension aqueuse de cristaux (1) et d'une suspension aqueuse de microsphères d'estradiol (2) (formule N° 2, granulométrie 50-100 µm).

A 8 lapins mâles de race Nouvelle Zélande d'un poids moyen de 3,5 Kg on administre une dose unique intramusculaire contenant 5 mg d'estradiol (2 ml).

L'intervalle d'échantillonnage est de 1, 2, 4 et 24 heures durant 20 jours, puis à chaque trois jours jusqu'à atteindre 30 jours.

Les prises sont de 2ml par venoponction, sont centrifugées, puis gardées à -20°C jusqu'à l'analyse par radioimmunoanalyse.

- 21 -

Exemple 17 : Evolution comparative des niveaux plasmatiques de naproxene en solution huileuse et en suspension de microsphères.

Sujets d'expérimentation : lapins de race Nouvelle-Zélande agés d'environ 5 mois et pesant en moyenne 3,7 kg.

La prise de référence est de 5 ml de sang par ponction cardiaque, suivie de l'administration intramusculaire de 2ml de la formule à tester (formule 3) dans le membre inférieur droit.

Les prises à analyser furent prélevées à intervalles de 30 min. durant 2 heures et à intervalles de 60 min. jusqu'à compléter 6 heures. Dans plusieurs essais, en fonction des caractéristiques cinétiques du médicament, il y eut des prises additionnelles.

Des prises à analyser de 2ml, également prélevées par ponction cardiaque, furent placées en Vacutainer, additionnées d'héparine, centrifugées à 3000 rpm durant 10 min., puis le plasma séparé et congelé en cryotubes à -20°C jusqu'à son analyse.

La figure 20 montre que la variation des niveaux plasmatique, atteints après injection de microsphères, est beaucoup plus régulière que celle obtenue après injection de particules de forme quelconque (50-100  $\mu$ m).

- 22 -

En résumé, l'ensemble des résultats ci-dessus montre que dans la phase initiale de dissolution, des substances pharmaceutiquement actives présentent des valeurs numériques plus reproductibles et un profil de dissolution plus régulier lorsqu'elles sont sous forme d'échantillon de micro-sphères calibrées que sous forme de particules de formes irrégulières. Ceci permet de calculer de manière plus précise une dose pharmaceutiquement efficace. De plus, la disparition, ou du moins la forte diminution du pic initial de dissolution (par rapport à des cristaux ou des particules quelconques) ainsi que le ralentissement et la prolongation globale du phénomène de dissolution permet de calculer des doses unitaires plus importantes destinées à être administrées à des intervalles de temps plus espacés.

D'autre part, les résultats ci-dessus montrent que l'utilisation de ce type de structure convient aussi bien à la fabrication des médicaments dont la durée d'action est relativement courte, quelques heures à quelques jours (p.e. analgésiques) qu'à des substances dont la durée d'action envisagée est de plusieurs semaines. Parmi ces dernières on peut citer en particulier l'utilisation d'hormones sexuelles (comme la progestérone et le 17- $\beta$ -estradiol) pour la fabrication d'anticonceptifs destinés à une injection mensuelle ou d'anticonceptifs destinés plus particulièrement à la femme post-partum, ou encore pour la fabrication de médicaments à longue durée d'action, injectables, destinés à la prévention de l'ostéoporose chez la femme ménopausée.



- 23 -

Le procédé de fabrication décrit ci-dessus, les structures sphériques et les formulations obtenues et leur utilisation par voie parentérale par injection ne sont bien entendu pas limitées aux substances données en exemples ci-dessus, mais sont applicables à toutes substances pharmacologiquement actives, chimiquement stables pendant la micronisation, à condition que les modifications pharmacocinétiques que permettent les microsphères (durée brève ou longue selon le diamètre, régularisation des profils plasmatique), présentent un avantage thérapeutique ou de commodité et que les doses à administrer ne dépassent pas un volume raisonnable. On peut choisir le mode d'administration parmi l'injection hypodermique, l'injection sous cutanée, l'injection intramusculaire, l'injection intra-articulaire et l'injection intra-rachidienne, selon l'application envisagée.

REVENDICATIONS

1. Microsphère solide, non poreuse, d'un diamètre compris entre 1  $\mu\text{m}$  et 300  $\mu\text{m}$  constituée essentiellement d'au moins une substance pharmaceutiquement active injectable.
2. Microsphère selon la revendication 1, caractérisée en ce que le diamètre de ladite microsphère est compris entre 5 et 100  $\mu\text{m}$ .
3. Microsphère selon la revendication 2, caractérisée en ce que son point de fusion est supérieur à 60°C.
4. Microsphère selon la revendication 3, caractérisée en ce que sa composition comprend également des additifs pharmaceutiquement acceptables.
5. Microsphère selon la revendication 1, obtenue par pulvérisation de ladite substance à l'état fondu et congélation rapide des gouttelettes dans un gaz froid.
6. Microsphère selon la revendication 1, caractérisée en ce que la substance pharmaceutique active est choisie parmi les stéroïdes.
7. Microsphère selon la revendication 5, caractérisée en ce que ladite substance pharmaceutiquement active est la progestérone.
8. Microsphère selon la revendication 5, caractérisée en ce que ladite substance pharmaceutiquement active est le 17- $\beta$ -estradiol.

- 25 -

9. Microsphère selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les analgésiques.

10. Microsphère selon la revendication 5, caractérisée en ce que ladite substance pharmaceutiquement active est le naproxène.

11. Microsphère selon la revendication 5, caractérisée en ce que ladite substance pharmaceutiquement active est l'indométhacine.

12. Procédé pour améliorer le contrôle des propriétés pharmacocinétiques et pharmacologiques d'une substance pharmaceutiquement active injectable, consistant à mettre ladite substance sous forme de microsphères solides non poreuses de diamètre compris entre 1 et 300  $\mu\text{m}$  et à séparer lesdites microsphères en fractions calibrées selon leurs diamètres.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que la séparation en fractions est effectuée de façon à ce que plus de 70 % desdites microsphères aient des diamètres compris entre 70 % et 130 % d'un diamètre spécifié.

14. Procédé selon la revendication 13 comprenant les étapes suivantes :

- a. Fusion de la substance active sous atmosphère inerte.
- b. Pulvérisation en brouillard de gouttelettes sous pression d'atmosphère inerte.
- c. Congélation en atmosphère froide.
- d. Tri par fractions granulométriques.

- 26 -

15. Utilisation de microsphères selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, calibrées, pour la fabrication d'une formulation destinée à l'administration parentérale par injection.

16. Utilisation selon la revendication 15, caractérisée en ce que le mode d'administration est choisi parmi l'injection hypodermique, l'injection sous-cutanée, l'injection intramusculaire, l'injection intra-articulaire et l'injection intra-rachidienne.

17. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que lesdites microsphères sont présentées sous forme d'une poudre, prête à être mise en suspension au moment de l'emploi dans un vecteur liquide pharmaceutiquement acceptable choisi parmi les solutions aqueuses, notamment une solution saline, et les huiles.

18. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que lesdites microsphères sont présentées sous forme d'une suspension dans un vecteur liquide pharmaceutiquement acceptable dans lequel lesdites microsphères sont sensiblement insolubles.

19. Utilisation de microsphères selon la revendication 1 pour la fabrication d'un anticonceptif destiné à l'injection parentérale, caractérisée en ce que ladite formulation comprend une association de microsphères calibrées de progestérone et de microsphères calibrées de 17- $\beta$ -estradiol.

20. Utilisation de microsphères de progestérone selon la revendication 5, pour la fabrication d'un anticonceptif post partum destiné à l'injection parentérale.

- 27 -

21. Utilisation de microsphères de progestérone selon la revendication 5 pour la fabrication d'un médicament administrable par injection parentérale destiné à la prévention de l'ostéoporose chez la femme ménopausée.

22. utilisation de microsphères selon l'une des revendications 9, 10, 11, pour la fabrication d'un analgésique à action prolongée destiné à l'injection parentérale.

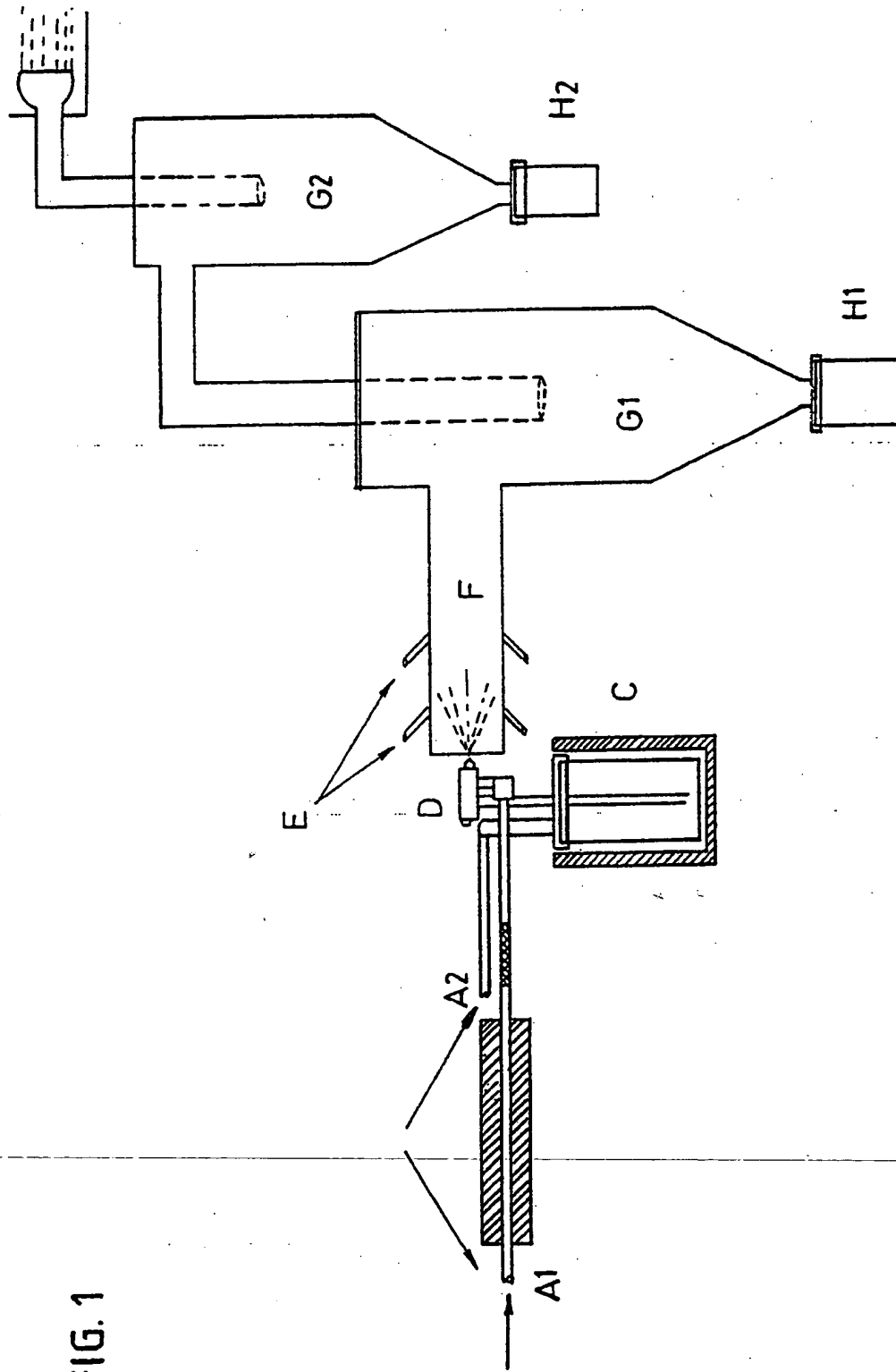


FIG. 1

SEMBLE DE REMPLACEMENT

FIG. 2

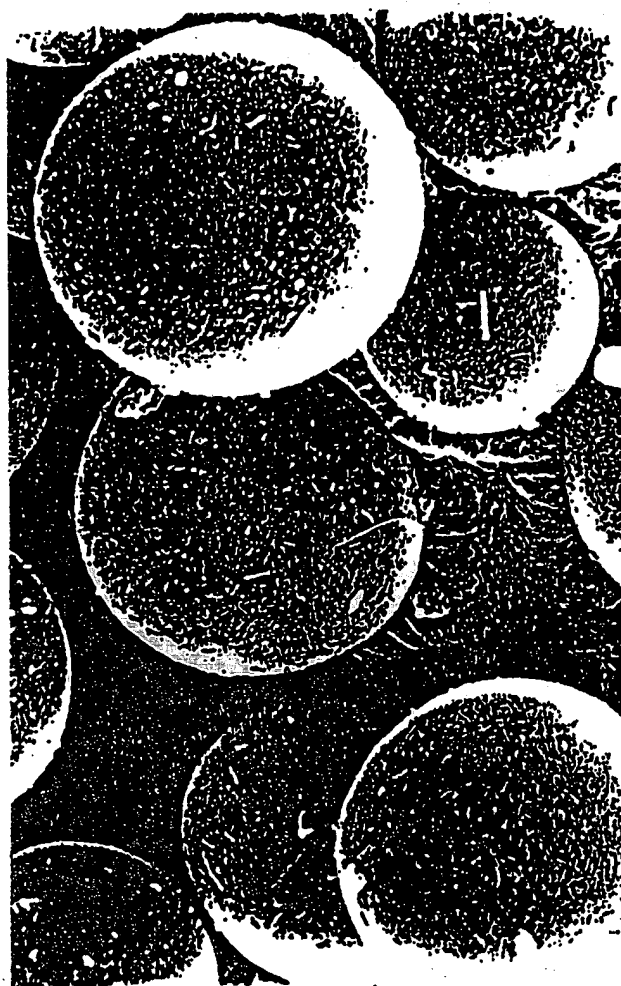
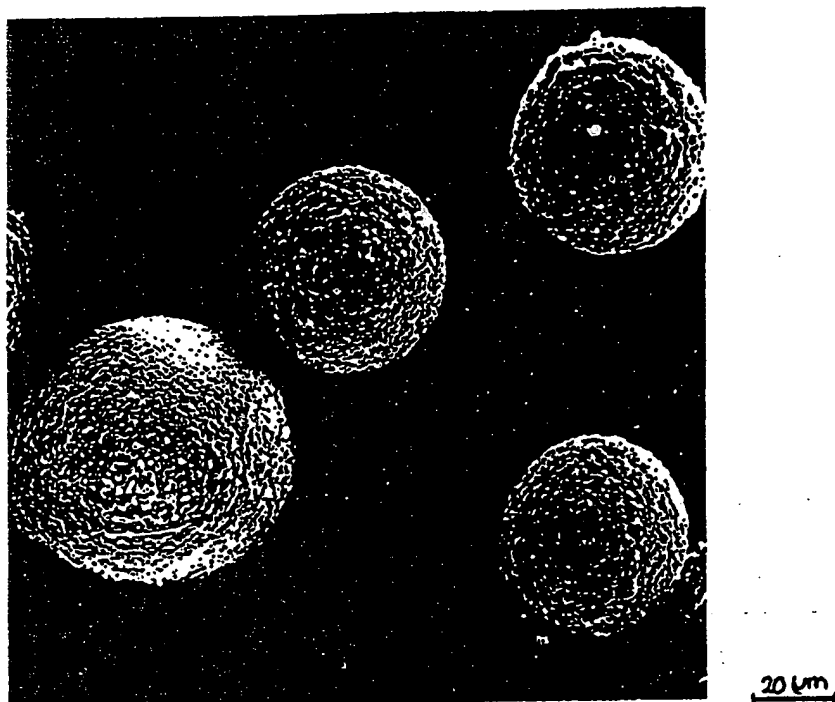
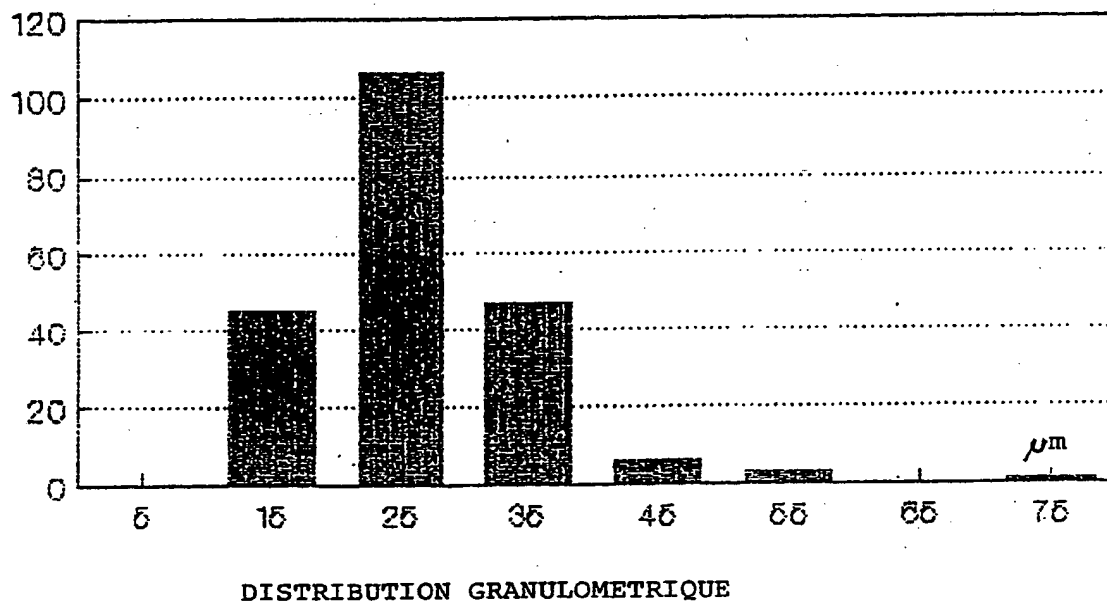


FIG. 3

FIG. 4





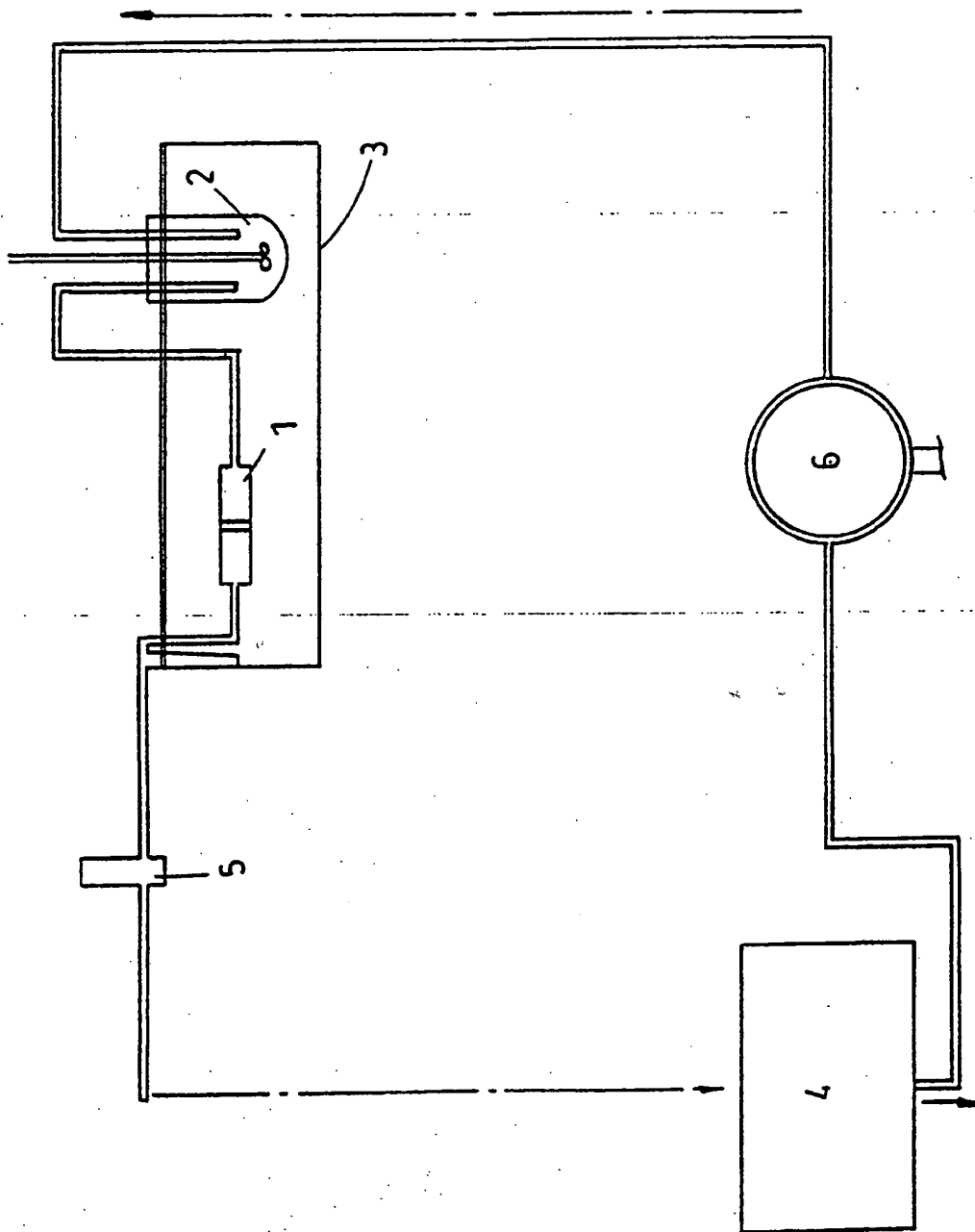
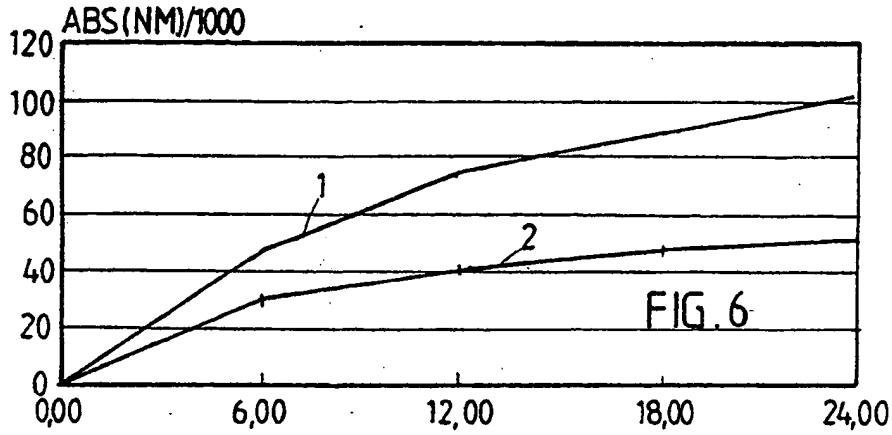


FIG. 5

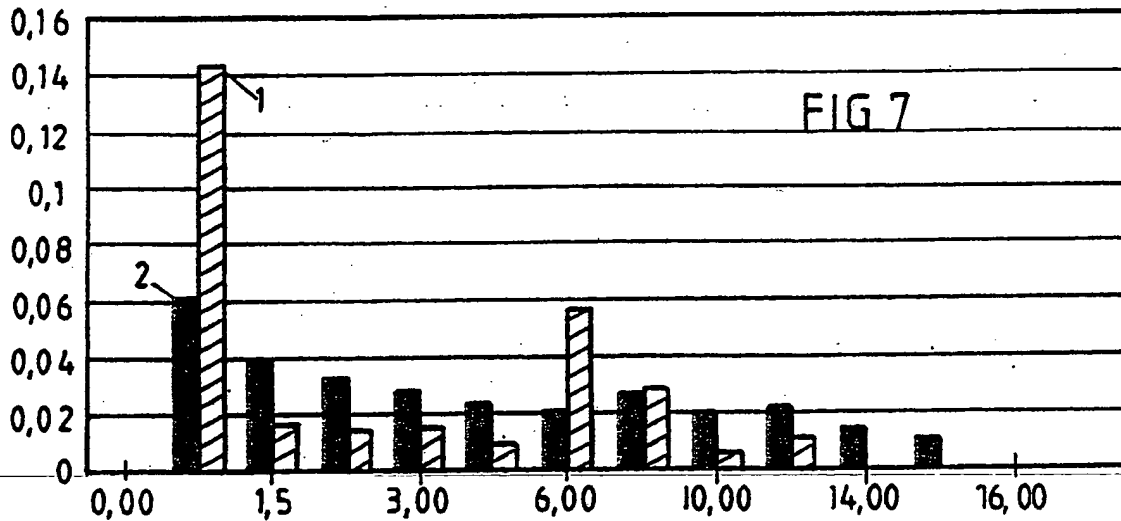
CELLULE DE REMPLACEMENT

PROFIL DE DISSOLUTION DE  
PARTICULES DE PROGESTERONE



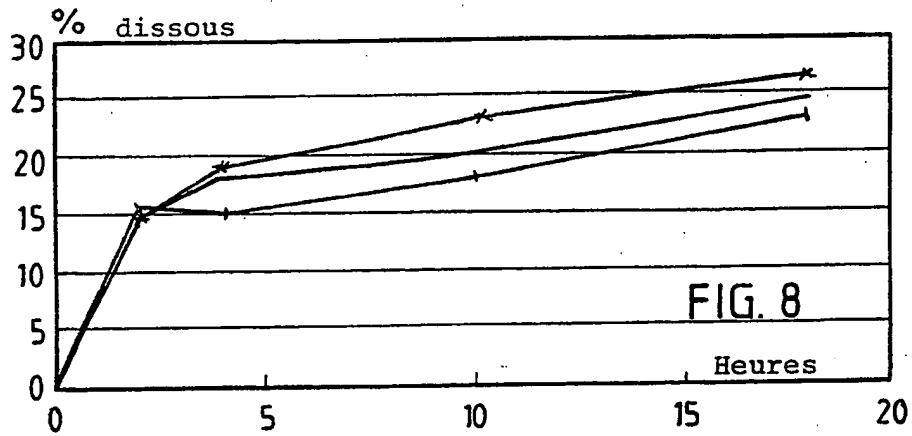
1: cristaux      2: microsphères

VITESSES DE DISSOLUTION DE PARTICULES  
DE PROGESTERONE

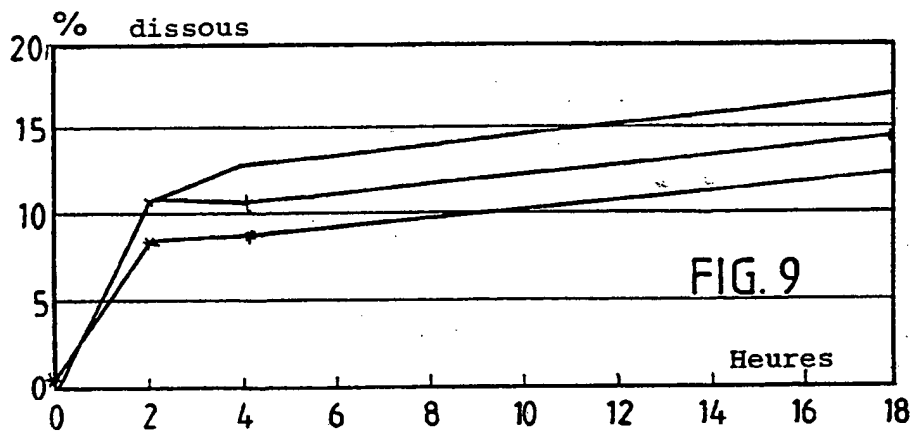


1: cristaux      2: microsphères

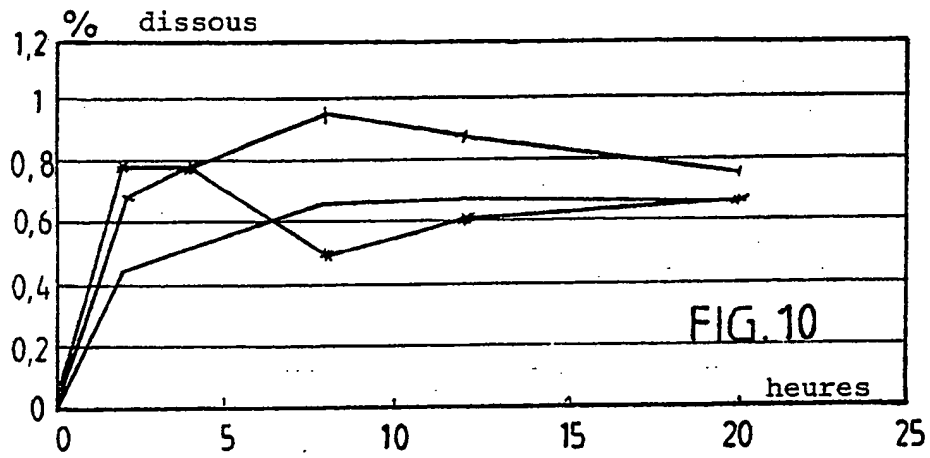
PROFIL DE DISSOLUTION  
17- $\beta$ -extradiol, cristaux



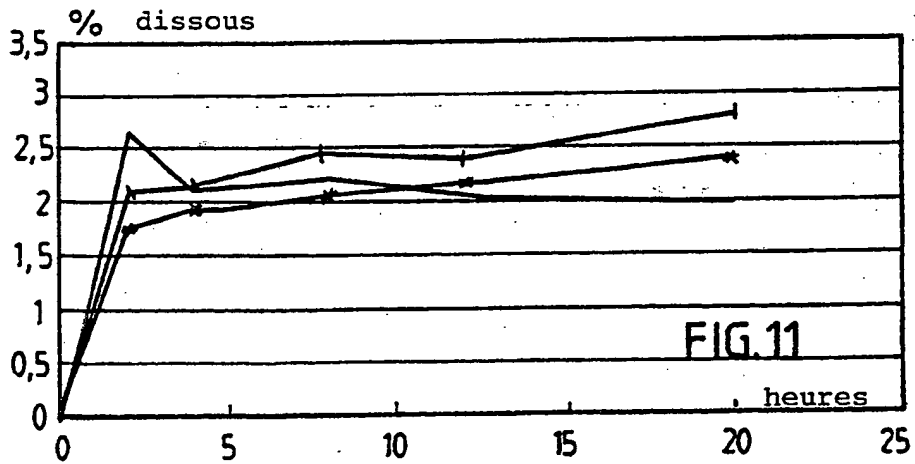
PROFIL DE DISSOLUTION  
17- $\beta$ -extradiol, microsphères



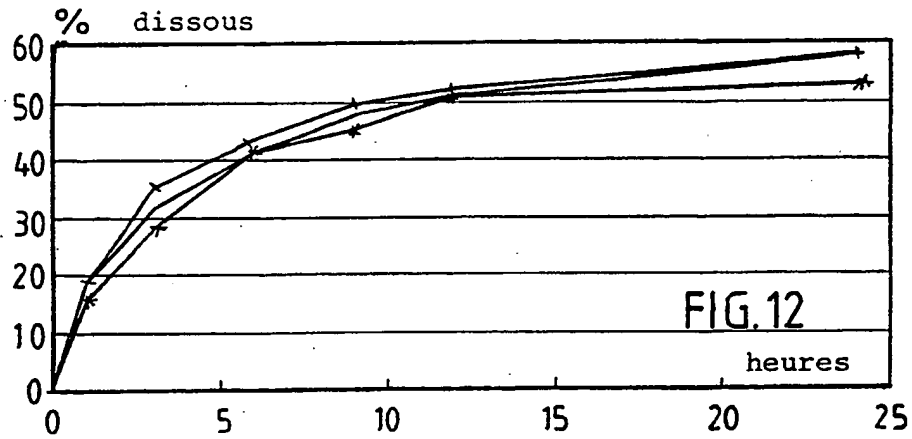
PROFIL DE DISSOLUTION  
Progesterone, microspheres



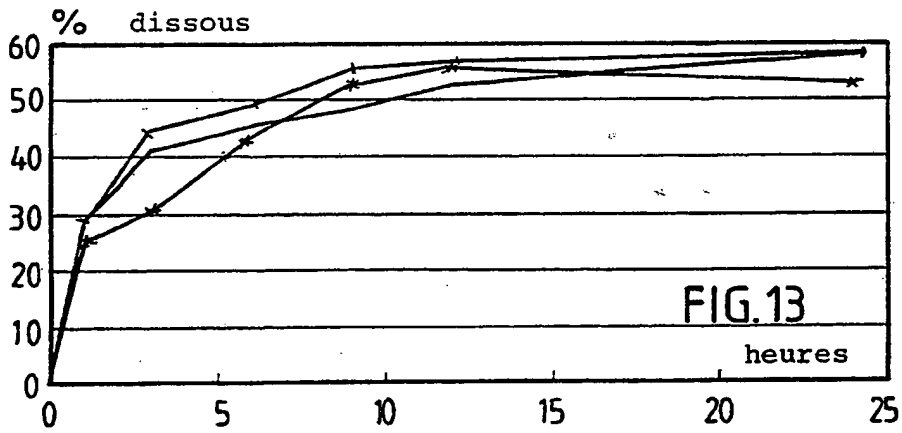
PROFIL DE DISSOLUTION  
Progesterone, cristaux



PROFIL DE DISSOLUTION  
Naproxène, microsphères



PROFIL DE DISSOLUTION  
Naproxène, cristaux



Niveaux plasmatiques de progestérone  
chez le lapin, après injection de  
150 mg, en solution huileuse

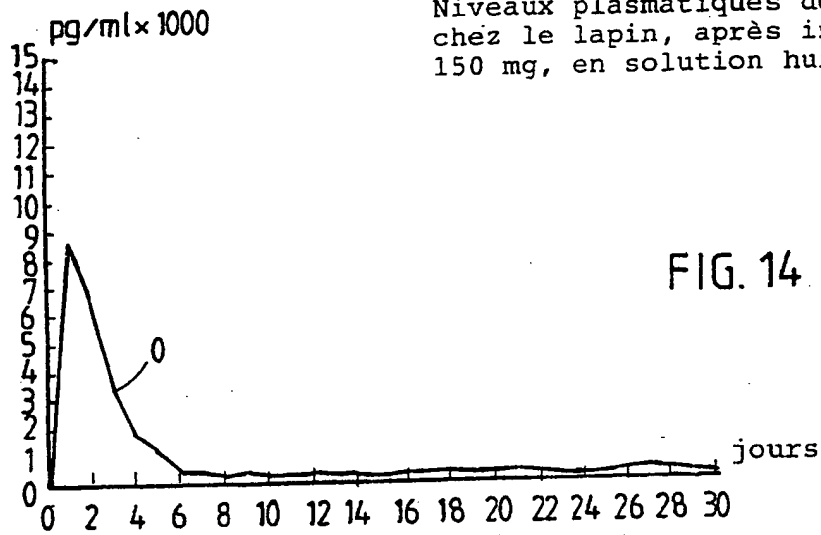


FIG. 14

Niveaux plasmatiques de progestérone  
chez le lapin, après injection de  
150 mg, de cristaux en suspension  
aqueuse

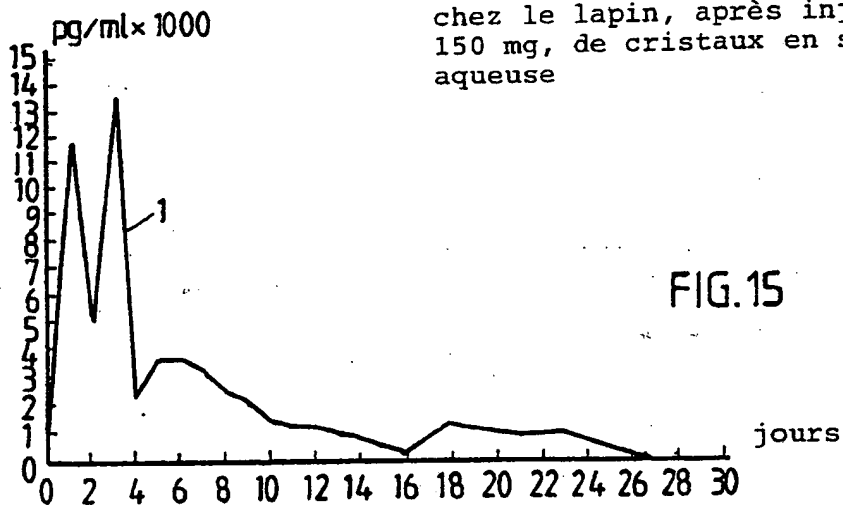
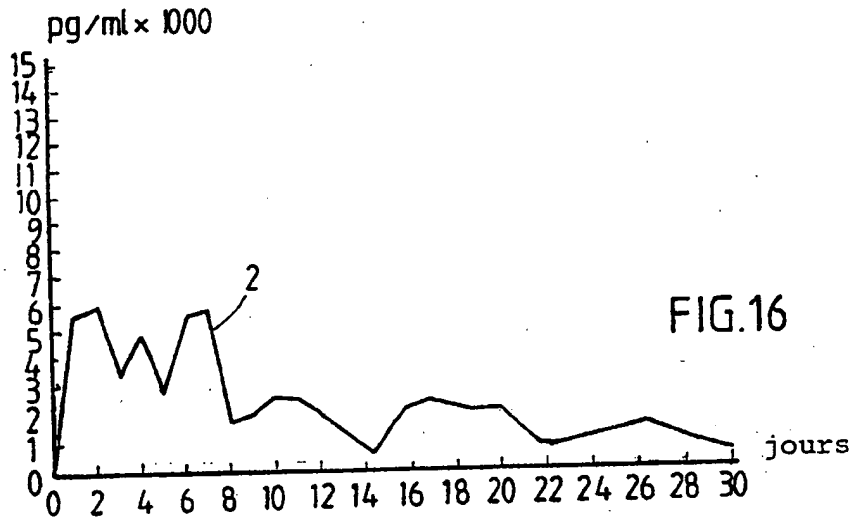
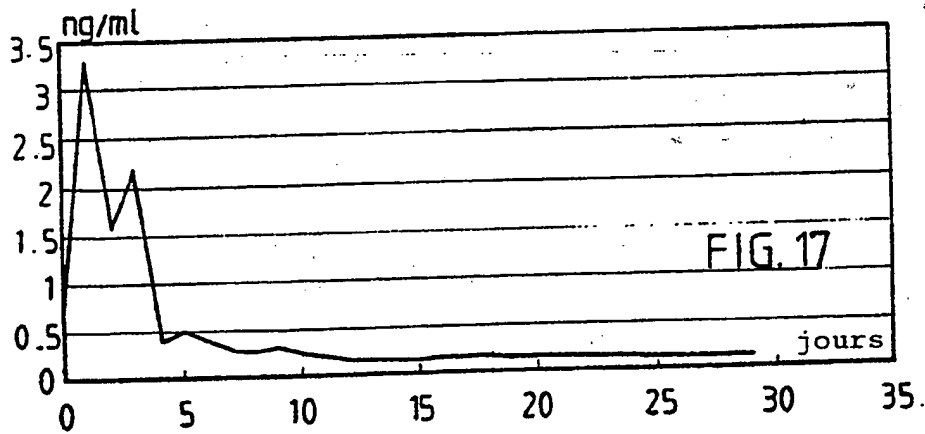


FIG. 15

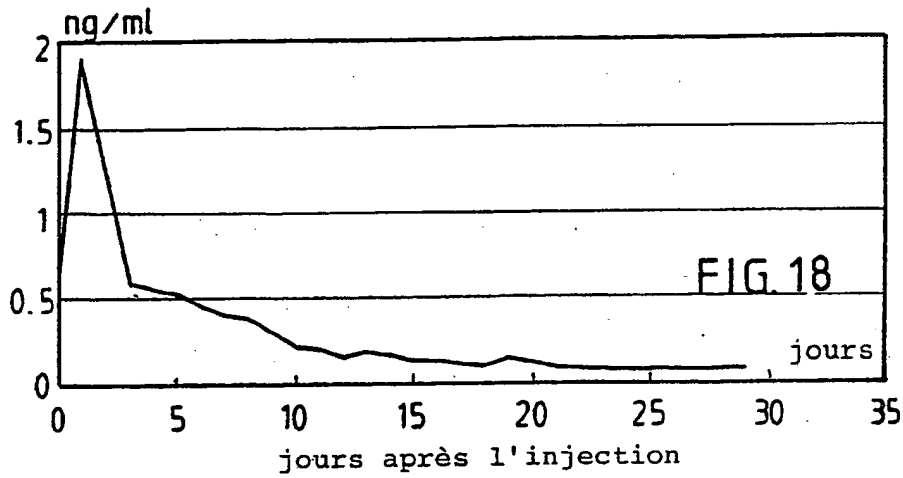
Niveaux plasmatiques de progestérone  
chez le lapin, après injection de  
150 mg de microsphères (formule 1)



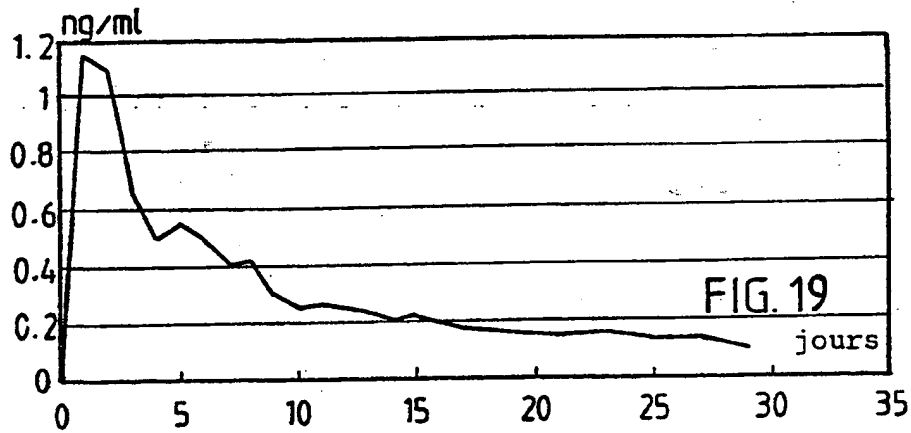
Niveaux plasmatiques d'extradiol  
chez le lapin, après injection de  
5 mg, en solution huileuse



Niveaux plasmatiques d'extradiol chez le lapin, après injection de 5 mg de cristaux en suspension aqueuse



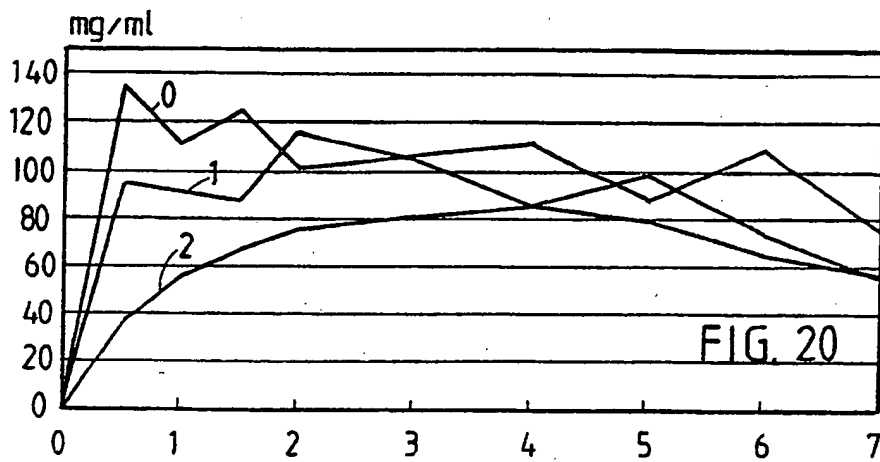
Niveaux plasmatiques d'extradiol chez le lapin, après injection de 5 mg de microsphères (formule 2)





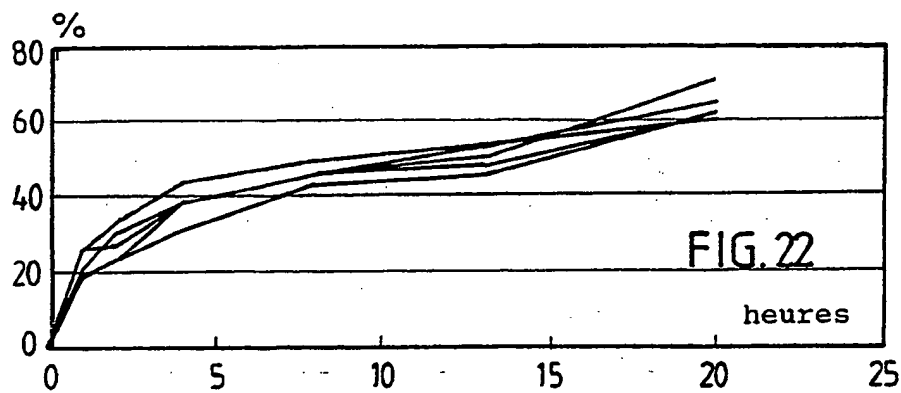
- 12/13 -

Niveaux plasmatiques de Naproxène  
chez le lapin, après injection de 200 mg

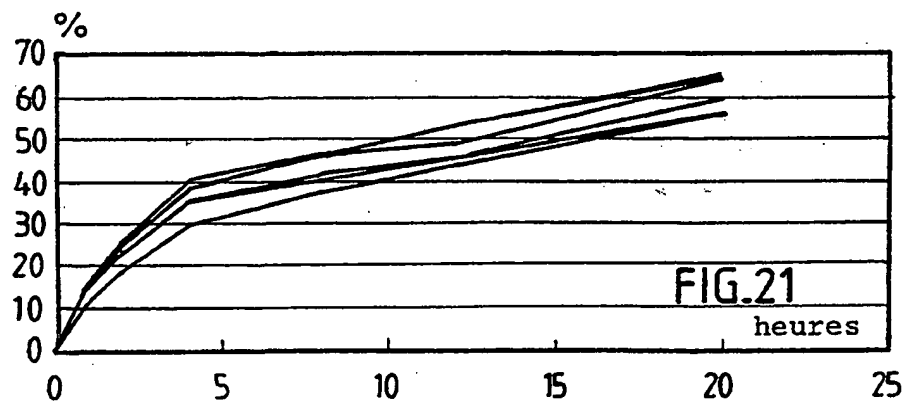


Courbe 0 : solution huileuse  
Courbe 1 : cristaux  
Courbe 2 : microsphères (50-100  $\mu$ m)

PROFIL DE DISSOLUTION  
Indométhacine, cristaux



PROFIL DE DISSOLUTION  
Indométhacine, microsphères



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 91/01096

<b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (if several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int. Cl. <sup>5</sup> A 61 K 9/16		
<b>II. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>		
Classification System	Classification Symbols	
Int. Cl. <sup>5</sup> A 61 K		
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup></b>		
Category <sup>10</sup>	Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>	Relevant to Claim No. <sup>13</sup>
X	FR, A, 2070153 (E.I. DU PONT DE NEMOURS AND CO.) 10 September 1971, see claims 1-3, 7, 8, 10, 12, 13; page 1, lines 36-39; page 2, lines 1-7, 14-18; page 3, lines 3-29; page 15, lines 27-35; page 16, lines 28-30; page 17, lines 1-8; page 19, lines 1-15; examples 1,7	1-15
X	EP, A, 0257368 (AMERICAN CYANAMID CO.) 2 March 1988, see claims 1,5,14; page 3, lines 1-3; page 4, lines 1-3, 21-31; (cited in the application)	1,4,6
E	WO, A, 9013285 (ENZYTECH, INC.) 15 November 1990, see claims 1, 7; page 2, lines 20-27; page 4, line 29; page 5, lines 1-32; page 6, lines 11-24; example 16	1,4,6,9-11
A	BE, A, 670438 (SPOFA, SPOJENE PODNIKY PROZDRAVOTNICKOU VYROBU) 31 January 1966, see page 1, paragraph 2; page 3, line 7	16
<p><sup>10</sup> Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
26 July 1991 (26.07.91)	4 November 1991 (04.11.91)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office		

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

EP 9101096  
SA 48222

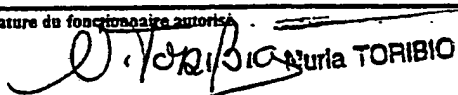
This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 18/09/91. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR-A- 2070153	10-09-71	CA-A- 982479	27-01-76
		DE-A, B, C 2051580	06-05-71
		GB-A- 1325209	01-08-73
		US-A- 3773919	20-11-73
EP-A- 0257368	02-03-88	AU-B- 597708	07-06-90
		AU-A- 7672587	18-02-88
		JP-A- 63048223	29-02-88
		US-A- 4837381	06-06-89
		ZA-A- 8705898	12-02-88
WO-A- 9013285	15-11-90	AU-A- 5635990	29-11-90
		EP-A- 0432232	19-06-91
BE-A- 670438	31-01-66	GB-A- 1116795	
		NL-A- 6512823	07-04-66

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/EP 91/01096

<b>I. CLASSEMENT DE L'INVENTION</b> (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) <sup>7</sup>		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB Int.C1.5                      A 61 K    9/16		
<b>II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b>		
Documentation minimale consultée <sup>8</sup>		
Système de classification	Symboles de classification	
Int.C1.5	A 61 K	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté <sup>9</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b> <sup>10</sup>		
Catégorie <sup>o</sup>	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, <sup>12</sup> des passages pertinents <sup>13</sup>	No. des revendications visées <sup>14</sup>
X	FR,A,2070153 (E.I. DU PONT DE NEMOURS AND CO.) 10 septembre 1971, voir les revendications 1-3,7,8,10,12,13; page 1, lignes 36-39; page 2, lignes 1-7,14-18; page 3, lignes 3-29; page 15, lignes 27-35; page 16, lignes 28-30; page 17, lignes 1-8; page 19, lignes 1-15; exemples 1,7 ---	1-15
X	EP,A,0257368 (AMERICAN CYANAMID CO.) 02 mars 1988, voir les revendications 1,5,14; page 3, lignes 1-3; page 4, lignes 1-3,21-31 (cité dans la demande) ---	1,4,6
E	WO,A,9013285 (ENZYTECH, INC.) 15 novembre 1990, voir les revendications 1,7; page 2, lignes 20-27; page 4, ligne 29; page 5, lignes 1-32; page 6, lignes 11-24; exemple 16 --- -/-	1,4,6,9 -11
<p><sup>o</sup> Catégories spéciales de documents cités:<sup>11</sup></p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date.</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>"T" document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive.</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature; cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
26-07-1991	04. 11. 91	
Administration chargée de la recherche internationale	Signature du fonctionnaire autorisé	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	 J. TORIBIO TORIBIO	

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS<sup>14</sup>

(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR LA  
DEUXIEME FEUILLE)

Catégorie °	Identification des documents cités, <sup>16</sup> avec indication, si nécessaire des passages pertinents <sup>17</sup>	No. des revendications visées <sup>18</sup>
A	BE,A, 670438 (SPOFA, SPOJENE PODNIKY PROZDRAVOTNICKOU VYROBU) 31 janvier 1966, voir la page 1, paragraphe 2; page 3, ligne 7 <p style="text-align: center;">-----</p>	16

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE  
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

EP 9101096  
SA 48222

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 18/09/91  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR-A- 2070153	10-09-71	CA-A- 982479	27-01-76
		DE-A, B, C 2051580	06-05-71
		GB-A- 1325209	01-08-73
		US-A- 3773919	20-11-73
EP-A- 0257368	02-03-88	AU-B- 597708	07-06-90
		AU-A- 7672587	18-02-88
		JP-A- 63048223	29-02-88
		US-A- 4837381	06-06-89
		ZA-A- 8705898	12-02-88
WO-A- 9013285	15-11-90	AU-A- 5635990	29-11-90
		EP-A- 0432232	19-06-91
BE-A- 670438	31-01-66	GB-A- 1116795	07-04-66
		NL-A- 6512823	

EPO FORM P0472

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**